

令和 7 年 7 月 18 日

報道機関 各位

国立大学法人熊本大学

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーモデルマウスの病態改善に成功
～鉄代謝とフェロトーシス経路を標的にした新たな治療戦略～

(ポイント)

- 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) ^{*1} の原因遺伝子 DUX4^{*2} による細胞毒性に、骨格筋内への異常な鉄蓄積とそれに伴う鉄依存性細胞死フェロトーシス経路^{*3}の活性化が関与することを見出しました。
- 予想外に、FSHD マウスへの鉄投与は、骨格筋の異常鉄蓄積とフェロトーシス経路の活性化を抑制し、病態を劇的に改善しました。
- FSHD マウスにフェロトーシス阻害剤フェロスタチン-1 (Fer-1) を投与すると顕著な病態改善効果が認められました。
- 本成果から、鉄代謝^{*4}やフェロトーシス経路を標的にした FSHD の新たな治療法開発が期待できます。

(概要説明)

FSHDは、遺伝性かつ進行性の筋疾患で、現在根本的治療法はありません。FSHDでは、DUX4という細胞毒性をもつ転写因子が骨格筋に誤発現します。DUX4の誤発現はFSHDの発症要因になると考えられていますが、DUX4がどのように細胞毒性を発揮し骨格筋に障害を与えるのか、そのメカニズムについてはあまりわかっていません。

今回、熊本大学発生医学研究所 筋発生再生分野の中村晃大研究員、小野悠介教授らの研究チームは、DUX4 が誘発する細胞毒性に微量元素である鉄の代謝異常が関連することを見出し、FSHD の新規治療標的になり得ることを報告しました。

本研究では、FSHD 患者および FSHD モデル (DUX4-Tg) マウスの骨格筋において鉄が異常蓄積していることを観察しました。そこで体内の鉄を減らすと病態が改善すると予想し、検証しました。DUX4-Tg マウスに、鉄キレート剤の投与、低用量鉄含有食の摂餌、あるいは遺伝子改変から細胞内鉄取り込みを阻害したところ、予想に反し、筋力低下等の FSHD 病態は改善されず、むしろ悪化させました。一方、意外にも、高用量鉄含有食の摂餌または鉄製剤を静脈投与すると、DUX4-Tg マウスの筋内異常鉄蓄積、握力、走力、自発的運動量等は著しく改善されました。さらに、骨格筋に発現した DUX4 は、

鉄依存性細胞死であるフェロトーシス経路を活性化させることを見出しました。フェロトーシス関連化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニング^{*5}を実施したところ、フェロトーシス阻害剤フェロスタチン-1 (Fer-1) を同定しました。DUX4-Tg マウスに Fer-1 を投与すると握力や走力に顕著な改善効果が認められました。

以上の結果から、DUX4 が誘発する細胞毒性に鉄代謝異常をともなうフェロトーシス経路の活性化が関連することが明らかになりました(概要図)。今後、さらなるメカニズムを解明し、有効かつ安全な FSHD 治療法の開発を推進します。

本研究成果は、米国の医学雑誌「**Journal of Clinical Investigation**」への掲載に先立ち、令和 7 年 7 月 1 日(米国東部標準時午後 12 時)に In-Press Preview 版としてオンライン公開されました。

なお、本研究は熊本大学発生医学研究所細胞医学分野の日野信次朗准教授、東京科学大学難治疾患研究所の諸石寿朗教授、東京科学大学高等研究府の中山敬一特別栄誉教授、国立精神・神経医療研究センター神経研究所の斎藤良彦リサーチフェロー、西野一三部長との共同研究で行ったものです。

(説明)

[背景]

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) は、その名の通り、主に顔面、肩甲帯、上腕から筋力低下がみられ、徐々に下肢、体幹へと進行する遺伝性疾患です。現在、FSHD に対する根本的治療法はなく、患者数は人口 8 千人に 1 人程度、世界で約 87 万人と推定されています。FSHD では、本来発現が認められない骨格筋に DUX4 という細胞毒性をもつ転写因子が誤発現し、疾患発症につながると考えられています。DUX4 は 4 番染色体末端の D4Z4 リピートにコードされており、健常者の骨格筋では DNA メチル化^{*6} により発現が抑制されています。FSHD 患者では D4Z4 リピート数の減少にともなう DNA メチル化の低下、あるいは DNA メチル化酵素の異常により DUX4 発現が異所性に誘導されます。しかし、骨格筋に誤発現した DUX4 がどのように細胞毒性を発揮するのか、そのメカニズムについてはあまりよくわかっていません(図 1)。

近年、さまざまな疾患には鉄代謝異常を伴うことがわかってきました。微量元素である鉄は、酸素運搬、エネルギー産生、DNA 合成等、多くの細胞機能に必須の役割を果たす一方で、フェントン反応を介して、活性酸素種(ROS)であるヒドロキシルラジカルを生成し、酸化ストレスによる細胞毒性を発揮します。近年、アポトーシスとは異なる細胞死の新概念として、鉄依存性細胞死であるフェロトーシスが注目されています。先行研究では、DUX4 発現誘導細胞株を用いた化合物スクリーニング解析の結果、アポトーシス阻害剤では抑制できなかったと報告されています。これらの知見を踏まえ、当研究チームは FSHD の病態には骨格筋の鉄代謝異常に伴うフェロトーシス経路の関与があると考えました。本研究では、タモキフェン投与依存的かつ骨格筋特異的に DUX4 を発現誘導できる FSHD モデル(DUX4-Tg)マウスを用いて、鉄代謝と FSHD 病態の関連性について調べました。

[研究の成果]

FSHD 患者の筋組織を用いて鉄染色による組織学的評価を実施したところ、FSHD 罹患筋において鉄の異常蓄積を観察しました。続いて、DUX4-Tg マウスから単離した単一筋線維または DUX4 を発現誘導した培養筋管細胞^{*7}においても異常な鉄蓄積を確認しました（図 2）。そこで、DUX4-Tg マウスの体内の鉄レベルを低下させることで病態を緩和できるのではないかと考えました。体内の余分な鉄分を排出させる鉄キレート剤の投与、低用量鉄含有食の摂餌、あるいは遺伝学的に細胞内鉄取り込みを阻害させたところ、予想に反して、DUX4-Tg マウスの握力や走力低下等の FSHD 病態は改善されず、むしろ悪化を招きました（図 3）。一方、逆に、高用量の鉄含有食摂餌、または貧血治療薬として用いられている鉄製剤の静脈内投与による影響を検討したところ、驚くことに、DUX4-Tg マウスの筋病理像、握力、走力、自発的運動量は劇的に改善しました（図 3）。また、興味深いことに、鉄投与によって DUX4-Tg マウスの血中および鉄貯蔵器である肝臓では鉄レベルは増加したにも関わらず、骨格筋ではむしろ異常鉄蓄積が改善するという意外な結果が得られました。現時点でこのメカニズムは不明ですが、体外から鉄が過剰に入ることによって骨格筋では鉄取り込みを制限する何らかのネガティブフィードバック機構が働いた可能性があります。DUX4-Tg マウスの骨格筋では、細胞内鉄取り込みに作用するトランスフェリン受容体（TFR）の発現レベルは異常に増加していましたが、体外からの鉄投与により TFR 発現は抑制されました。したがって、鉄投与は、TFR の発現低下を介して骨格筋内の異常鉄蓄積を改善したと推測されます。

次に、DUX4 細胞毒性とフェロトーシスの関連について調べました。フェロトーシス経路では、反応性の高い二価鉄が細胞膜リン脂質の過酸化反応の連鎖を触媒し、過酸化脂質が蓄積します。細胞内小器官であるリソソームは細胞内鉄代謝の中心であり、鉄を貯蔵あるいは再利用する機能を担っていることから、その機能不全はフェロトーシス経路を活性化させます。本研究で実施した RNA シークエンス解析から、DUX4-Tg マウスの骨格筋ではリソソーム関連遺伝子の発現変化がみられ、鉄投与によりこの変化は消失しました。実際、DUX4 発現を誘導した培養筋管細胞のリソソームには鉄が過剰に蓄積していましたが、また、DUX4-Tg マウスの骨格筋では、筋損傷が進行し、過酸化脂質（4-HNE）や酸化型グルタチオンといったフェロトーシス関連因子は増加していましたが、鉄投与によりこれらは顕著に改善されました（図 4）。以上の結果から、DUX4 は筋細胞の鉄代謝制御機構を攪乱し、フェロトーシス経路を活性化することで、筋障害を誘発する可能性が示唆されました。

最後に、DUX4 を発現させた培養筋管細胞の生存率を指標に、536 個のフェロトーシス関連化合物ライブラリーを用いたスクリーニング試験を実施しました。その結果、フェロトーシス阻害剤フェロスタチン-1（Fer-1）を含む 18 個の化合物を同定しました。DUX4-Tg マウスに Fer-1 を投与すると、握力や走力に劇的な改善効果が認められました（図 5）。この結果は、DUX4 による細胞毒性発揮のメカニズムとして、フェロトーシス経路の活性化が重要であることをさらに裏付けました。

[展開]

本研究から、DUX4 の細胞毒性に鉄代謝異常とフェロトーシス経路の関与が明らかになり、FSHD に対する新たな治療標的が見出されました(概要図)。今後、鉄代謝を包括的解析し、詳細なメカニズムを明らかにしていきます。

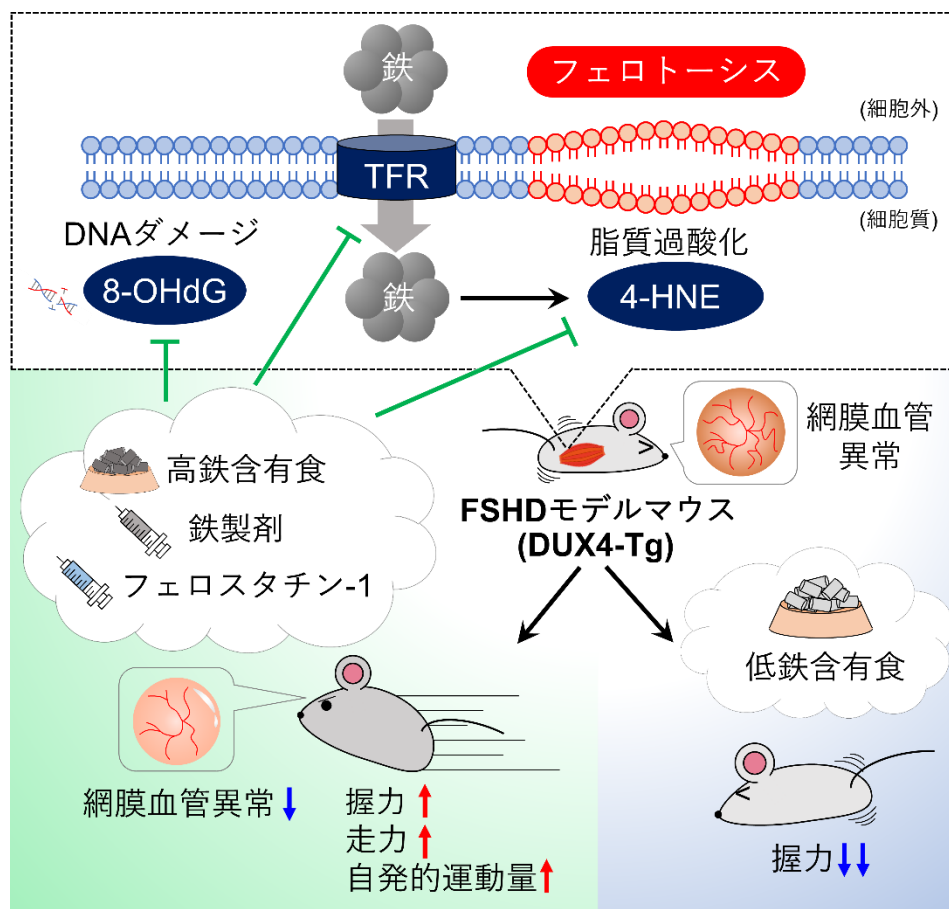
FSHD 患者の半数以上に網膜の異常がみられます。本研究で用いた DUX4-Tg マウスは、骨格筋にのみ DUX4 が発現するにも関わらず網膜血管異常を呈し、鉄投与によってその異常は改善しました。このことから、FSHD の網膜の病態形成には、エクソソーム等を含む骨格筋由来因子を介す臓器連関や、血管障害を介す可能性があります。DUX4 が細胞内外の鉄代謝をどのように攪乱しフェロトーシス経路を活性化させるのか、また、細胞間相互作用や臓器連関については、さらなる研究が必要です。

加齢による筋脆弱症であるサルコペニアや他の筋ジストロフィータイプにおいても鉄代謝異常は指摘されていることから、DUX4-Tg マウスで得られた知見は様々な筋疾患の病態解明に役立つ可能性があります。

[備考]

鉄は生命にとって必須の微量元素ですが、過剰に摂取すると鉄中毒として肝臓などさまざまな臓器に障害を与えます。そのため、厚生労働省「日本人の食事摂取基準(2025年版)」では、1日あたりの鉄分摂取推奨量が決められています。今回当研究チームがマウス実験に用いた高用量鉄添加食は、コントロールの通常食に比べて約 60 倍の鉄分を含有していますが、鉄中毒でみられる肝障害マーカーは変化していませんでした。また、本研究においてマウスに使用した鉄製剤は、ヒトの鉄欠乏性貧血治療薬として認可されているものであり、体重あたりの投与量はヒトと同程度です。しかし、マウスとヒトでは鉄代謝が異なる可能性もあり、今回の研究結果をそのままヒトに適用することはできないため、FSHD 治療薬として用いるためにはヒトでの安全性と有効性の両面からの研究が必要です。

[概要図]



概要図. DUX4 の細胞毒性に鉄代謝異常とフェロトーシス経路の関与が明らかになり、FSHD に対する新たな治療標的が見出された。

[図]

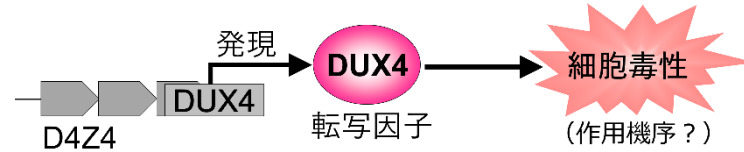


図 1. DUX4 による細胞毒性. FSHD では、D4Z4 リピート数の減少にともなう DNA メチル化低下あるいは DNA メチル化酵素の異常により DUX4 が誤発現する。DUX4 がどのように筋障害を引き起こすのか作用機序はわかっていない。

マウス単離単一筋線維
二価鉄 DNA

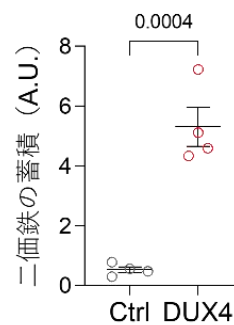
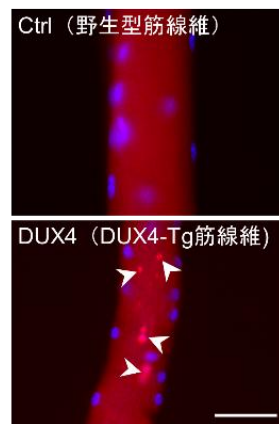


図 2. DUX4-Tg マウス筋線維における鉄蓄積. DUX4 を発現誘導した DUX4-Tg マウス (DUX4) から単離した単一筋線維において二価鉄 (反応性の高い鉄) の異常な蓄積が観察された。

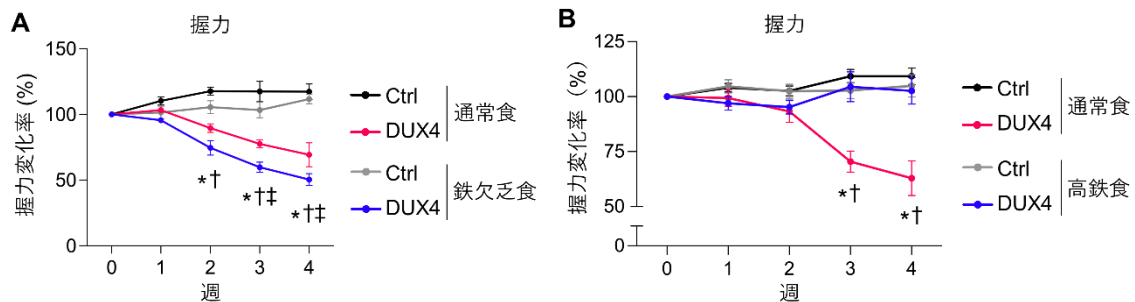


図 3. DUX4-Tg マウスにおける鉄欠乏または鉄投与の影響. (A) DUX4 を発現誘導した DUX4-Tg マウス (DUX4) において、低用量鉄含有食 (鉄欠乏食) 摂餌群は、通常食摂餌群に比べて握力は顕著に低下した。* $P < 0.05$, Ctrl+通常食 vs. DUX4+通常食, † $P < 0.05$, Ctrl+鉄欠乏食 vs. DUX4+鉄欠乏食, ‡ $P < 0.05$, DUX4+通常食 vs. DUX4+鉄欠乏食。(B) 高用量鉄含有食 (高鉄食) 摂餌により、DUX4-Tg マウスの握力は Ctrl と同程度に維持された。* $P < 0.05$, Ctrl+通常食 vs. DUX4+通常食, † $P < 0.05$, DUX4+通常食 vs. DUX4+高鉄食。

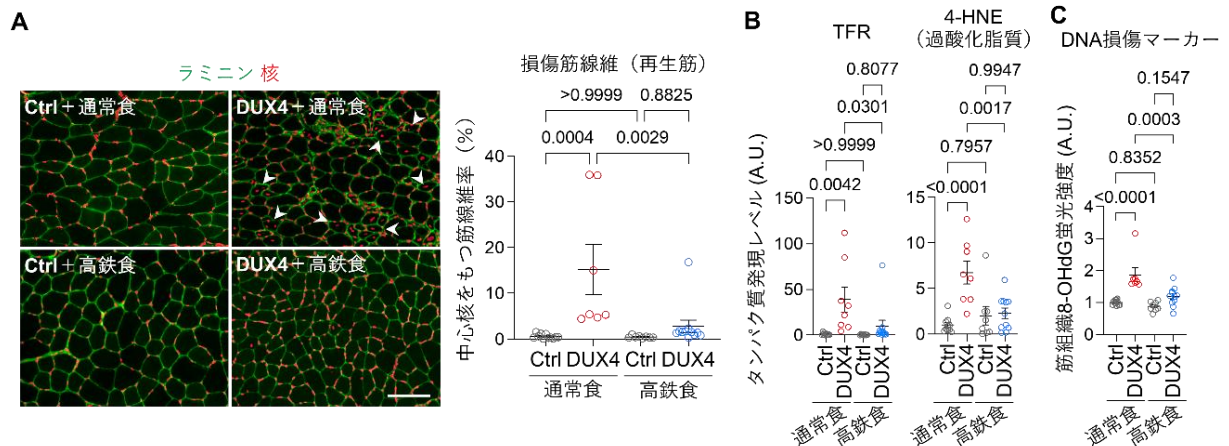


図 4. 高鉄食による DUX4-Tg マウスのフェロトーシス経路の抑制. (A) 筋横断面の組織解析の結果、通常食摂餌群において、DUX4 を誘導していないコントロールマウス (Ctrl) に比べて DUX4-Tg マウス (DUX) は中心核をもつ再生筋線維 (矢頭) 割合が多く、筋損傷が進行していた。一方、高鉄食摂餌群では、Ctrl、DUX4-Tg マウスともに中心核をもつ再生線維はほとんど観察されなかった。(B) 細胞内への鉄取り込みに重要な TFR とフェロトーシス経路の活性化マーカーである 4-HNE (過酸化脂質) は、DUX4-Tg マウスの通常食群では増加したが、高鉄食では変化がなかった。(C) 筋組織において、DNA 損傷マーカー (8-OHdG) は DUX4 発現により増加するが、高鉄食では変化しなかった。

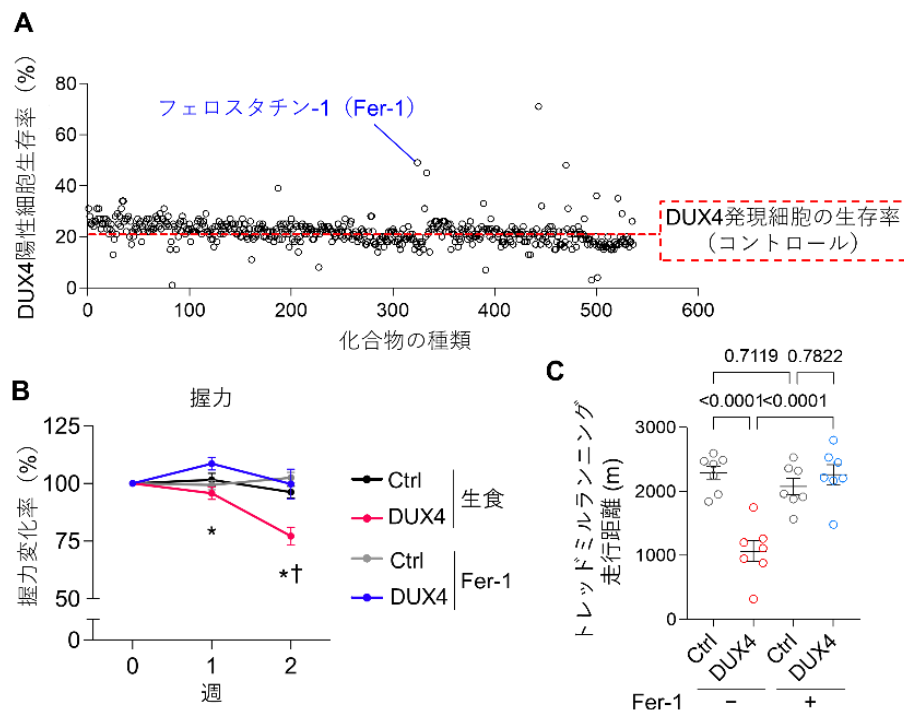


図 5. フェロトーシス経路の阻害により DUX4 細胞毒性を抑制. (A) DUX4 を発現させた培養筋管細胞の生存率を指標とした化合物スクリーニングの結果、生存率を改善させる化合物としてフェロトーシス阻害剤 Fer-1 を同定した。DUX4-Tg マウスに Fer-1 を投与すると、生理食塩水 (生食) 投与群に比べて、握力 (B) や走力 (C) は顕著に改善した。* $P < 0.05$, DUX4 + 生食 vs. DUX4 + Fer-1, † $P < 0.05$, Ctrl + 生食 vs. DUX4 + 生食。

[用語解説]

＊ 1．FSHD：指定難病である筋ジストロフィーのひとつ。筋ジストロフィーの中では比較的患者数が多いと推定されている。

＊ 2．DUX4：細胞毒性を持つ転写因子で FSHD の原因遺伝子。通常、胚発生や生殖細胞に発現するが、骨格筋には発現しない。

＊ 3．フェロトーシス：鉄依存性の新たな細胞死の概念。過酸化脂質の蓄積を伴う。がん、神経変性疾患、心疾患など、さまざまな疾患との関連注目されている。

＊ 4．鉄代謝：細胞機能に必須の鉄は過剰になると細胞を障害するため、細胞内鉄濃度は厳密に制御される。鉄不足の状態では、トランスフェリン受容体（TFR）発現が増加し、細胞内鉄取り込みを促進する。細胞内のリソソーム、ミトコンドリア、フェリチンは細胞内鉄の貯蔵や利用を制御する。

＊ 5．ハイスループットスクリーニング：短時間で多数の化合物の効果を評価し、候補物質を効率的に特定する手法のひとつ。創薬、バイオマーカー探索に活用される。

＊ 6．DNA メチル化：DNA にメチル基が付加される現象で、DNA 配列を変えることなく遺伝子発現を調節する。DNA メチル化異常は、さまざまな疾患と関連する。

＊ 7．培養筋管細胞：単離培養した筋幹細胞を分化誘導した多核の筋細胞。成体の筋線維に比べると未熟な状態ではあるが、培養下の筋細胞として機能解析に用いられる。

[特記事項]

本研究は、日本医療研究開発機構（難治性疾患実用化研究事業・微小環境異常に着目した顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの疾患発症メカニズムの解明と新規治療基盤の確立（JP25ek0109823））、創発的研究支援事業、日本学術振興会 科学研究費助成事業、武田科学振興財団、アステラス製薬代謝疾患研究会の支援を受けて実施されました。

[参考文献]

中村晃大、小野悠介．「顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの基礎研究の現状」．難病と在宅ケア．25 巻．10-14 項．2019 年

(論文情報)

論文名 : Iron supplementation alleviates pathologies in a mouse model of facioscapulohumeral muscular dystrophy

著者 : Kodai Nakamura¹, Huascar Pedro Ortuste Quiroga¹, Naoki Horii¹, Shin Fujimaki¹, Toshiro Moroishi^{2,3,4}, Keiichi I Nakayama^{5,6}, Shinjiro Hino⁷, Yoshihiko Saito⁸, Ichizo Nishino⁸, Yusuke Ono^{1,3,9*}

所属 :

- 1) 熊本大学発生医学研究所 筋発生再生分野
- 2) 熊本大学生命科学研究部 分子薬理学講座
- 3) 熊本大学健康長寿代謝制御研究センター
- 4) 東京科学大学難治疾患研究所 細胞動体学分野
- 5) 東京科学大学高等研究府 制がんストラテジー研究室
- 6) 九州大学生体防御医学研究所 分子医学分野
- 7) 熊本大学発生医学研究所 細胞医学分野
- 8) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部
- 9) 東京都健康長寿医療センター研究所 筋老化制御研究室

*責任著者

掲載誌 : **Journal of Clinical Investigation**

DOI : doi: 10.1172/JCI181881.

URL : <https://www.jci.org/articles/view/181881>

【本発表資料のお問い合わせ先】

熊本大学発生医学研究所
筋発生再生分野 教授 小野 悠介
〒860-0811 熊本市中央区本荘 2-2-1
TEL : 096-373-6601
E-mail : ono-y@kumamoto-u.ac.jp

【報道に関するお問い合わせ先】

熊本大学総務部総務課広報戦略室
〒860-8555 熊本市中央区黒髪 2-39-1
TEL : 096-342-3269
E-mail : sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp